

CONTENT OF SEROTONIN AND ITS PRECURSOR TRYPTOPHAN IN THE BRAIN OF RATS UNDER LONG-TERM EFFECT OF HYDROXYETHYLATED NONYLPHENOLS AND THEIR DERIVATIVES

Marakushin D.I.

ВМІСТ СЕРОТОНІНУ ТА ЙОГО ПОПЕРЕДНИКА ТРИПТОФАНУ У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ЗА ТРИВАЛОГО ВПЛИВУ ОКСИЕТИЛЬОВАНИХ НОНІЛФЕНОЛІВ ТА ЇХНІХ ПОХІДНИХ



МАРАКУШИН Д.І.
Харківський національний
медичний університет

УДК: 577.175.823:577.112.387.
4:543.395:616-099-092.9

Ключові слова:
оксиетильовані
нонілфеноли, щури,
головний мозок, серотонін,
триптофан.

Незважаючи на наявність значної кількості наукових робіт, присвячених вивченню різних аспектів дії промислових органічних хімічних речовин на об'єкти довкілля, організм людини і тварин, проблема охорони від їхнього негативного впливу залишається надзвичайно гострою [1-3]. Передусім це пов'язане зі збільшенням синтезу та впровадженням нових груп речовин широкого кола застосування [4]. Це стосується оксиетильованих нонілфенолів (ОЕНФ) та їхніх похідних — натрієвих солей карбоксиметилатів оксиетильованих ізононілфенолів (КМ-ОЕНФ), які за фізико-хімічними властивостями та особливостями будови молекул належать до іоногенних детергентів. Ці речовини характеризуються досить значними об'ємами синтезу, широким використанням у різних галузях народного господарства (як основа промислового випуску пластмас, поліуретанів, мийних засобів, емульгаторів, антикорозійних препара-

тів, гідравлічних та охолоджувальних речовин тощо), надходженням до джерел питного водопостачання та завдяки цьому можливим впливом на організм людини [5, 6]. Патофізіологічні механізми дії ОЕНФ та їхніх похідних вивчено недостатньо, а саме їх урахування є надійною підставою для адекватного обґрунтування медико-профілактичних заходів щодо захисту об'єктів довкілля та здоров'я населення. Однією з центральних проблем патофізіології є вивчення закономірностей процесів адаптації та гомеостазу за впливу на організм різних факторів довкілля, у тому числі й хімічного походження [7]. Важлива роль в їх формуванні належить моноамінергічним нейро-медіаторним системам головного мозку [8].

Метою даного дослідження було визначення вмісту індоламіну — серотоніну та його попередника триптофану у гомогенаті головного мозку щурів за умов тривалого впливу ок-

СОДЕРЖАНИЕ СЕРОТОНИНА И ЕГО ПРЕДШЕСТВЕННИКА ТРИПТОФАНА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВЛИЯНИИ ОКСИЭТИЛИРОВАННЫХ НОНИЛФЕНОЛОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ
Маракушин Д.И.

Харьковский национальный медицинский университет

Целью данного исследования было определение содержания серотонина и его предшественника триптофана в гомогенате головного мозга крыс в условиях длительного влияния оксиэтилированных нонилфенолов и их производных.

Материалы и методы исследования.

Эксперименты проведены на половозрелых крысах-самцах линии WAG, которых подвергали пероральной заправке с помощью зонда водными растворами веществ ежедневно в течение 45 суток в дозах 1/10 и 1/100 ДЛ₅₀. Уровень серотонина и триптофана в головном мозге крыс определяли хроматографическим методом

на колонках с катионообменной смолой.

Результаты и их обсуждение. В работе рассмотрены закономерности процессов адаптации и гомеостаза при действии на организм оксиэтилированных нонилфенолов и их производных.

Выводы. Установлено влияние оксиэтилированных нонилфенолов и их производных — натриевых солей карбоксиметилатов оксиэтилированных изононилфенолов на процессы нейрогуморальной регуляции крыс, что подтверждается разбалансированием серотонинэргической нейромедиаторной системы головного мозга. Доказано снижение серотонинэргической активности головного мозга крыс в условиях действия исследуемых веществ в дозе 1/10 ДЛ₅₀ и усиление синтеза серотонина (защитно-компенсаторная реакция организма) при действии веществ в дозе 1/100 ДЛ₅₀.

Ключевые слова: оксиэтилированные нонилфенолы, крысы, головной мозг, серотонин, триптофан.

© Маракушин Д.И. СТАТТЯ, 2015.

сиетильованих нонілфенолів та їхніх похідних у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀.

Дослідження виконане у рамках науково-дослідної роботи Харківського національного медичного університету "Вивчення механізмів біологічної дії простих полієфірів у зв'язку з проблемою охорони навколишнього середовища" (номер держреєстрації 0110U001812).

Матеріал та методи дослідження. У роботі використано зразки речовин з регламентованими фізико-хімічними характеристиками: ОЕНФ з числом оксиетильованих груп 6, 12 (ОЕНФ_{6,12}) та КМ-ОЕНФ з числом оксиетильованих груп 4, 6 (КМ-ОЕНФ_{4,6}). Експерименти проведено на статевозрілих щурах-самцях лінії WAG масою 180-220 г. Утримання та маніпуляції над тваринами виконувалися відповідно до основних принципів у сфері біоетики. Їх піддавали пероральній затравці за допомогою зонда водними розчинами речовин щоденно одноразово протягом 45 діб у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Середньолетальні дози (ДЛ₅₀) складали для ОЕНФ₆ — 4,2 г/кг; ОЕНФ₁₂ — 3,4 г/кг; КМ-ОЕНФ₄ — 6,1 г/кг; КМ-ОЕНФ₆ — 2,2 г/кг маси тіла. Тваринам контрольної групи вводили відповідні об'єми питної води. Дослідження показників проводили за 45 діб після початку експерименту. У кожній групі було по 15 тварин. Забій проводили шляхом декапітації, попередньо анестезуючи тіопенталом натрію. Рівень серотоніну та триптофану у головному мозку щурів визначали після виділення хроматографічним методом на колонках з катіонобмінною смолою (Dowex 50Wx4, 200-400 mesh,

натрієва форма, параметри колонки d=4 мм, h=75 мм) згідно з методичними рекомендаціями [9]. Швидкість протікання розчинів через колонки не перевищувала 1 мл/хв. До наважки тканини додавали не менше п'яти об'ємів 0,2 М НСІО₄ з 0,5% ЕДТА, гомогенізували. Гомогенат залишали на 20-30 хв. на холоді, а потім центрифугували. Центрифугат зливали, осад промивали 0,2 М НСІО₄ з 0,5% ЕДТА і знову центрифугували. Центрифугати об'єднували, нейтралізували насиченим розчином Na₂CO₃ до рН 6,0-6,5 та пропускали через колонки з подальшою послідовною промивкою водою. Триптофан елюювали 0,1 М натрій-фосфатним буфером (рН 6,5) з 0,1% ЕДТА. Серотонін екстрагували 50% N-етанольною соляною кислотою. Триптофан визначали на спектрофлуориметрі "Hitachi MPF-4A" за довжини хвилі збудження 290 нм та довжини хвилі люмінесценції 345 нм, серотонін — 303/330 нм. Статистичний аналіз даних проводили з використанням комп'ютерного пакета прикладних програм для обробки статистичної інформації Statistica 6.1 (StatSoft, Inc., США). Первинне статистичне опрацювання даних починали з перевірки припущення про відповідність вибірок закону Гаусівського розподілу, застосовуючи критерій Шапіро-Вілка. Додатково правильність позитивного висновку щодо нормальності розподілу вибірок контролювали за допомогою коефіцієнтів асиметрії та ексцесу. Кількісні ознаки, що мали нормальний розподіл, описували параметричними характеристиками — середнім значенням показника (M) та середнім квадратичним відхиленням (s); у

Таблиця

Вміст серотоніну та триптофану у головному мозку щурів на 45-ту добу впливу оксиетильованих нонілфенолів та їхніх похідних (нмоль/г тканини; n=15; Me [25%; 75%] або M±s)

Речовина	Серотонін		Триптофан	
	доза, ДЛ ₅₀			
	1/10	1/100	1/10	1/100
ОЕНФ ₆	5,5 [4,8; 7,0] p=0,001	11,0±2,01 p=0,005	2,8 [2,0; 3,9] p<0,001	3,9 [3,0; 4,9] p=0,027
ОЕНФ ₁₂	5,2 [4,0; 6,3] p<0,001	11,9±1,88 p<0,001	3,2 [2,7; 4,6] p=0,009	5,0 [4,5; 5,9] p=0,8
КМ-ОЕНФ ₆	3,8±1,03 p<0,001	12,5±1,88 p<0,001	2,0 [2,0; 3,1] p<0,001	4,1±0,84 p=0,054
КМ-ОЕНФ ₄	6,6±1,34 p=0,013	9,1±1,99 p=0,49	4,0 [3,2; 5,3] p=0,078	6,0 [5,5; 7,4] p=0,05
Контроль	8,0 [7,1; 10,9]		5,1±1,45	

Примітка: p — рівень значущості порівняно з контролем.

разі відсутності нормального розподілу непараметричними — медіаною (Me) та інтерквартильним розмахом. Для порівняння двох нормальних розподілів застосовували t-критерій Ст'юдента. Якщо принаймні один з розподілів не був нормальним, то для порівняння незалежних вибірок застосовували критерій Манна-Уїтні. За критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали p<0,05.

Результати та їх обговорення. У головному мозку тварин, яким тривалий час перорально вводили ОЕНФ та їхні похідні у дозі 1/10 ДЛ₅₀, спостерігалось статистично значуще (p<0,013) порівняно з контролем зниження вмісту індоламіну — серотоніну: найбільш виразне для КМ-ОЕНФ₆ (у 2 рази), найменш — для КМ-ОЕНФ₄ (лише в 1,2 рази) (табл.). При введенні тваринам речовин у дозі 1/100 ДЛ₅₀ відзначалась протилежна динаміка змін вмісту серотоніну, а саме: статистично достовірне підвищення у середньому в 1,5 рази за умов дії ОЕНФ₆ (p<0,005), ОЕНФ₁₂ (p<0,001) та КМ-ОЕНФ₄ (p<0,001). Найменш токсичний серед усіх досліджуваних сполук КМ-ОЕНФ₄ у дозі 1/100 ДЛ₅₀ не впливав (p=0,49) на рівень серотоніну у головному мозку щурів.

Вміст попередника серотоніну — триптофану мав тенденцію до достовірного зниження щодо контролю за дії ОЕНФ₆ (p<0,001), ОЕНФ₁₂ (p=0,009) та КМ-ОЕНФ₆ (p<0,001) у дозі 1/10 ДЛ₅₀ відповідно в 1,8; 1,6 та 2,6 рази (табл.). За дії 1/100 ДЛ₅₀ статистично значуще (p=0,027) зменшення рівня триптофану у головному мозку щурів спостерігалось лише за умов тривалого впливу ОЕНФ₆ (в 1,3 рази).

Зниження у головному мозку щурів рівня серотоніну за тривалої дії ОЕНФ та їхніх похідних у дозі 1/10 ДЛ₅₀, ймовірно, пов'язане з кількома можливими причинами: виснаженням його запасів внаслідок участі у різних патологічних реакціях; зменшенням синтезу в умовах порушення метаболічних процесів; зниженням функціонування регуляторних структур головного мозку щурів. Аналіз результатів у випадку дії 1/100 ДЛ₅₀ до-

CONTENT OF SEROTONIN AND ITS PRECURSOR TRYPTOPHAN IN THE BRAIN OF RATS UNDER LONG-TERM EFFECT OF HYDROXYETHYLATED NONYLPHENOLS AND THEIR DERIVATIVES

Marakushyn D.I.

Kharkiv National Medical University

Objective: We analyzed a content of serotonin and its precursor tryptophan in the brain of rats under long-term effect of hydroxyethylated nonylphenols and their derivatives.

Materials and methods. The experiments were carried out on the WAG puberal male rats; we administered perorally the aqueous solutions of the substances in doses of 10/10 and 1/100 LD₅₀ to the rats with a help of a probe every day for 45 days. A level of serotonin and tryptophan in the brain of the rats was determined by chromatographic method on the columns with a cation-exchange rubber.

Results. The regularities of the processes of adaptation and homeostasis under effect of hydroxyethylated nonylphenols and their derivatives on the organism were considered in the work.

Conclusions. We established the effect of hydroxyethylated nonylphenols and their derivatives: sodium salts of hydroxyethylated isononylphenol carboxymethylates on the processes of neuro-humoral regulation of the rats, this was confirmed by a disbalance of serotonergic neuromediator system of the brain. We proved a decrease of serotonergic activity of the rat brain under effect of studied substances in a dose 1/10 DL₅₀, and increase of serotonin synthesis (protective-compensatory reaction of the organism) under effect of the substances in a dose of 1/100 DL₅₀.

Keywords: hydroxyethylated nonylphenols, rats, brain, serotonin, tryptophan.

зволяє припустити можливе збільшення проникності гематоенцефалічного бар'єру для триптофану та стимуляцію синтезу серотоніну у головному мозку щурів з метою його участі передусім в адаптаційно-приспосувальних реакціях.

Висновки

1. У механізмі тривалої дії оксигетильованих нонілфенолів та їхніх похідних — натрієвих солей карбоксиметилатів оксигетильованих ізононілфенолів у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀ на організм щурів істотною ланкою є негативний вплив на процеси нейрогуморальної регуляції, що підтверджується розбалансуванням серотонінергічної нейромедіаторної системи головного мозку.

2. Досліджувані речовини на 45-ту добу дії у дозі 1/10 ДЛ₅₀ викликають зниження серотонінергічної активності головного мозку щурів, що підтверджується зменшенням рівня серотоніну та його попередника триптофану. За умов тривалої впливу речовин у дозі 1/100 ДЛ₅₀, навпаки, відбувається посилення синтезу серотоніну, що дозволяє розглядати це як захисно-компенсаторну реакцію організму щурів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белозерова С.М. Особенности формирования заболеваемости в условиях индустриального труда и новых технологий / С.М. Белозерова // Медицина труда и промышленная экология. — 2011. — № 3. — С. 13-19.

2. Капранов С.В. Принципиальная схема влияния факторов среды жизнедеятельности на организм человека / С.В. Капранов // Довкілля та здоров'я. — 2011. — № 2. — С. 23-26.

3. Гнатейко О.З. Екогенетичні аспекти патології людини, спричиненої впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища / О.З. Гнатейко, Н.С. Лук'яненко // Здоровье ребенка. — 2007. — № 6 (9). — С. 15-24

4. Ксенобіотики: накопичення, детоксикація та виведення з живих організмів / Б.О. Цудзевич, О.Б. Столяр, І.В. Калініна, В.Г. Юкало. — Тернопіль : ТНТУ ім. І. Пулюя, 2012. — 384 с.

5. Детергенти сучасності: технологія виробництва, екологія, економіка використання / В.А. Бурлака, Г.Б. Руденко, І.Г. Грабар, А.Д. Біба. — Житомир, 2004. — 745 с.

6. Научные основы обоснования прогноза потенциальной опасности детергентов в связи с регламентацией в воде водоемов / А.Я. Цыганенко, В.И. Жуков, Н.Г. Щербань и др. — Белгород, 2001. — 442 с.

7. Постнова М.В. Физиологические механизмы индивидуальной организации гомеостаза организма / М.В. Постнова. — Волгоград : ВолГУ, 2011. — 356 с.

8. Исмаилова Х.Ю. Индивидуальные особенности поведения: (моноаминергические механизмы) / Х.Ю. Исмаилова, Т.М. Агаев, Т.П. Семенова. — Баку : Нурлан, 2007. — 228 с.

9. Atack C. A procedure for the isolation of noradrenaline (together with adrenaline), dopamine, 5-hydroxytryptamine and histamine from the same tissue sample using a single column of strongly acidic cation exchange resin / C. Atack, T. Magnusson // Acta pharmacol. et toxicol. — 1978. — Vol. 42. — P. 35-57.

REFERENCES

1. Belozerova S.M. Meditsina truda i promyshlennaia ekologiia. 2011; 3 : 13-19 (in Russian).

2. Kapranov S.V. Dovkillia ta zdorovia. 2011; 2 : 23-26 (in Russian).

3. Hnateiko O.Z., Lukianenko N.S. Zdorovie rebenka. 2007; 6(9) : 15-24 (in Ukrainian).

4. Tszudzevych B.O., Stoliar O.B., Kalinina I.V., Yukalo V.G. Ksenobiotyky: nakopychennia, detoksykatsiia ta vyvedennia z zhyvykh organizmiv [The Xenobiotics: Accumulation, Detoxification and Excretion from the Organisms]. Ternopil ; 2012 : 384 p. (in Ukrainian)

5. Burlaka V.A., Rudenko G.B., Hrabar I.G., Biba A.D. Deterhenty suchasnosti: tekhnolohiia vyrobnytstva, ekolohiia, ekonomika vykorystannia [Modern Detergents: Production Technology, Ecology, Economics of Use]. Zhytomyr ; 2004 : 745 p. (in Ukrainian).

6. Tsyganenko A.Ya., Zhukov V.I., Shcherban N.G., Evdokimov V.I. et al. Nauchnye osnovy obosnovaniia prognoza potentsialnoi opasnosti detergentov v sviazi s reglamentatsiei v vode vodoemov [Justification's Scientific Basis of Forecast the Detergents' Potential Danger in Connection with Regulation in Water Reservoirs]. Belgorod ; 2001: 442 p. (in Russian).

7. Postnova M.V. Fiziologicheskie mekhanizmy individualnoi organizatsii gomeostaza organizma [Physiological Mechanisms of the Individual Homeostasis Organization of the Organism]. Volgograd ; 2011: 356 p. (in Russian).

8. Ismailova Kh. Yu., Agaev T.M., Semenova T.P. Individualnye osobennosti povedeniia: (monoami-nergicheskie mekhanizmy) [Individual Behavior Features: (Monoaminergic Mechanisms)]. Baku: Nurlan; 2007: 228 p. (in Russian).

9. Atack C., Magnusson T. Acta Pharmacol. et Toxicol. 1978; 42 : 35-57.

Надійшла до редакції 12.09.2014